

Cellule CMK | 305533

Informazioni generali

Description

La linea cellulare CMK è un modello di leucemia megacarioblastica umana derivato da un paziente affetto da sindrome di Down a cui era stata diagnosticata una leucemia megacarioblastica acuta (AMKL). Queste cellule rivestono un ruolo significativo nella ricerca sulla differenziazione megacariocitica e sulla leucemia associata alla trisomia 21. Le cellule CMK presentano marcatori tipici dei megacariociti, quali le glicoproteine GPIIb/IIIa e GPIb, che sono componenti chiave delle membrane piastriniche. La presenza di attività della perossidasi piastrinica (PPO), localizzata nell'involucro nucleare e nel reticolo endoplasmatico ma non nell'apparato di Golgi, conferma il lignaggio megacariocitico di queste cellule. L'analisi ultrastrutturale rivela l'esistenza di granuli citoplasmatici simili ai granuli α e di membrane di demarcazione, a ulteriore conferma della loro natura megacariocitica.

Le cellule CMK sono caratterizzate da un cariotipo complesso, che include una quasi-tetraploidia e una traslocazione specifica, der(17)t(11;17), presente anche nelle cellule leucemiche originali del paziente. Questa alterazione genetica ricollega la linea cellulare allo stato patologico del paziente, fornendo un modello affidabile per lo studio della patogenesi dell'AMKL. Inoltre, la linea cellulare CMK è in grado di rispondere a fattori di crescita ematopoietici quali l'interleuchina-3 (IL-3) e il fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi (GM-CSF), che ne stimolano la proliferazione e la differenziazione in forme megacariocitiche più mature. Il trattamento con agenti come l'estere di forbol (TPA) potenzia l'espressione dei marcatori megacariocitici e induce cambiamenti morfologici, tra cui la segmentazione citoplasmatica simile alla formazione piastrinica. Queste caratteristiche rendono la linea cellulare CMK uno strumento prezioso per lo studio dello sviluppo del lignaggio megacariocitario, degli effetti della trisomia 21 sull'emopoiesi e dei meccanismi della leucemogenesi nella sindrome di Down.

Organism

Umano

Tissue

Sangue periferico

Disease

Leucemia mieloide associata alla sindrome di Down

Caratteristiche

Age

10 mesi

Gender

Uomo

Ethnicity

Giapponese

Growth properties

Sospensione

Dati normativi

Cellule CMK | 305533

Citation	CMK (codice catalogo Cytion 305533)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0216
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Mutational profile	Mutazione: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), eterozigote; Fusione genica: TP53-FXR2
---------------------------	--

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 20% di FBS
--------------------	---

Subculturing	Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Seeding density	3-5*10 ⁵ /ml
------------------------	-------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Cellule CMK | 305533

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.